

# ラット脊髄, 神経根, 後眼神経節におけるサブスタンスP, ニューロキニン<sub>1</sub>, ニューロキニン<sub>2</sub>の局在と後根切断あるいは胸髄切断の及ぼす影響

著者	小川 達次
号	1695
発行年	1985
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/19838">http://hdl.handle.net/10097/19838</a>



## 論文内容要旨

近年、ブタ脊髄から見出された Neurokinin  $\alpha$  (以下NK  $\alpha$ ), Neurokinin  $\beta$  (以下NK  $\beta$ ) は、C末端のアミノ酸配列が Substance P (以下SP) と類似した新しい神経ペプチドである。NK  $\alpha$ , NK  $\beta$  は、SPと同じ薬理活性及び幼若ラットの脊髄ニューロン興奮作用を有していることが知られている。更に、中枢神経系、特に黒質、線状体、脊髄に高濃度に存在しており、神経伝達物質としての条件が整いつつある。今回、NK  $\alpha$ , NK  $\beta$  含有ニューロンの脊髄内局在を推定するため、脊髄、脊髄神経根、後根神経節における分布及び後根切断、胸髄切断の脊髄内各ペプチド含量におよぼす影響を検討した。

## 方 法

成熟ウィスター系ラットを用い、正常対照群、後根切断群、胸髄切断群の3群に分けて比較した。後根切断群では、左第5から第8頸髄後根を切断した。7日後、第5頸髄から第8頸髄までを摘出し、さらに実体顕微鏡下に、術側及び健側の前角部、後角に四分割した。胸髄切断群は、第8から第10胸髄間を切断した。7日後、第4腰髄から第1仙髄を摘出し、前角部と後角に二分割した。正常対照群では、頸髄、腰髄に加えて、前根、後根、後根神経節をサンプリングした。得られたサンプルを酸性抽出液にてホモジナイズし、4℃ 4,000回転で30分間遠心した。上清をC18ミニカラムに通してペプチドを吸着させた後、50%アセトニトリルを含む10%酢酸にて溶出した。この溶出液を逆相系高速液体クロマトグラフィーにて分離し、NK  $\alpha$ , SP, NK  $\beta$  分画を得た。各分画から100  $\mu$ l ずつとり乾固し、各ラジオイムノアッセイ系にて定量した。NK  $\beta$  はNK  $\alpha$  に対する抗体と約25%クロスすることから、NK  $\alpha$  と同じRIA系で測定した。

## 結 果 及 び 考 察

### 1) 脊髄、脊髄神経根、後根神経節における各ペプチドの分布

一次知覚ニューロンの神経伝達物質であるSPは、後角 ( $557.1 \pm 38.8 \text{ pmol/g}$ ) 及び後根 ( $88.4 \pm 6.6 \text{ pmol/g}$ ) で、前角部 ( $105.1 \pm 3.0 \text{ pmol/g}$ )、前根 ( $7.5 \pm 0.8 \text{ pmol/g}$ ) の各々5倍、12倍の濃度で存在し、従来の報告と一致した。NK  $\alpha$  はSPの約30%の濃度であったが、その分布パターンはSPと類似し、SPとNK  $\alpha$  比は各神経組織で3.1~5.5と一定値をとった。この結果から、NK  $\alpha$  は一次知覚ニューロン内で神経伝達に関与していると考えられ、SPと共存する可能性が示唆された。一方、NK  $\beta$  は後角 ( $53.2 \pm 5.3 \text{ pmol/g}$ ) に最も高濃度に存在するものの、後根 ( $2.0 \pm 0.2 \text{ pmol/g}$ )、後根神経節 ( $1.2 \pm 0.3 \text{ pmol/g}$ ) にはきわめて少なく、SPとNK  $\beta$  比も、6~

44とばらつきを示した。

## 2) 後根切断の影響

SPとNK $\beta$ は健側後角 ( $359.6 \pm 47.0 \text{ pmol/g}$ ,  $81.9 \pm 18.8 \text{ pmol/g}$ ) に比して、術側後角 ( $192.8 \pm 46.1 \text{ pmol/g}$ ,  $34.9 \pm 10.1 \text{ pmol/g}$ ) で有意にかつ同程度に減少し、一次知覚ニューロン内に共存する可能性を支持する結果であった。一方、健側後角のNK $\alpha$ は、正常対照群 ( $127.9 \pm 22.7 \text{ pmol/g}$ ) に比して有意に減少しており、NK $\alpha$ 含有一次知覚ニューロンは一部、対側後角へも終わっていると考えた。健側後角でのSPの減少は有意ではなかった。しかし、湿重量あたり  $36 \text{ pmol}$  とNK $\alpha$  とはほぼ同量の減少を呈し、この対側後角への投射系においても、SPとNK $\alpha$ が共存している可能性を考えた。次に、脊髄内のNK $\beta$ 含量は後根切断によって変化を示さず、SP、NK $\alpha$ とは異なり、一次知覚ニューロンペプチドではないと考えた。

## 3) 胸髄切断の影響

腰髄前角部のSPは正常対照群 ( $105.1 \pm 3.0 \text{ pmol/g}$ ) に比して、胸髄切断群 ( $71.6 \pm 10.7 \text{ pmol/g}$ ) で有意に減少し、従来の免疫組織化学的観察と一致した。NK $\alpha$ も減少したが統計学的に有意ではなかった。NK $\beta$ は  $53.2 \pm 5.3 \text{ pmol/g}$  から  $73.9 \pm 9.5 \text{ pmol/g}$  へと、胸髄切断群の腰髄後角で有意の増加を示した。この増加は胸髄切断により、axonal transportが阻害され、腰髄後角にある細胞体側にNK $\beta$ が蓄積したためと考えた。従ってNK $\beta$ 含有ニューロンとして、後角に神経終末をもつ脊髄介在ニューロンと後角に細胞体を持ち、脊髄内を上行するニューロンを想定している。

## 結

## 論

- 1) NK $\alpha$ はSPと同じく、一次知覚ニューロンの神経伝達物質と考えられ、SPと同一ニューロン内に共存する可能性が示唆された。
- 2) NK $\alpha$ 含有一次知覚ニューロンは、一部交叉して対側の後角に終わっていると考えられる。この線維系においても、SPとNK $\alpha$ は共存している可能性がある。
- 3) NK $\beta$ は脊髄介在ニューロン、あるいは、後角に細胞体を持ち、脊髄を上行するニューロンに含まれていると考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

Neurokinin  $\alpha$  (NK  $\alpha$ ) と Neurokinin  $\beta$  (NK  $\beta$ ) は、ブタ脊髄から見出された新しい神経ペプチドであり、C末端のアミノ酸配列が Substance P (SP) と類似している。NK  $\alpha$ , NK  $\beta$  は、SP と同じ薬理活性及び幼若ラット脊髄ニューロン興奮作用を有していることが知られている。更に、著者らが既に報告しているように、中枢神経系、特に黒質、線状体、脊髄に高濃度に存在しており、神経伝達物質としての条件が整いつつある。本研究は、NK  $\alpha$ , NK  $\beta$  含有ニューロンの脊髄内局在を解明するために行われた。

はじめに、著者らは、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) とラジオイムノアッセイ (RIA) を組合わせた新しい測定法を確立した。NK  $\alpha$ , NK  $\beta$  はC末端が類似しているため、現在、各ペプチドに対する特異抗体は作製されていない。本研究に用いられた抗NK  $\alpha$  抗体もNK  $\beta$  と25%の cross reactivity を有していた。それ故、検体を抽出後、HPLC にてNK  $\alpha$ , SP, NK  $\beta$  の各分画に分離した後、SPは抗SP抗体、NK  $\alpha$  とNK  $\beta$  は抗NK  $\alpha$  抗体によるRIAで定量した。新しい測定法により得られたSPに関する値は、Bioassay やRIAによる従来の報告と一致しており、信頼しうる方法と考えられる。

この方法を用いて、著者らは

- 1) 脊髄、脊髄神経根、後根神経節における各ペプチド (NK  $\alpha$ , SP, NK  $\beta$ ) の分布。
- 2) 頸髄後根片側切断の脊髄内各ペプチド含量に及ぼす影響。
- 3) 胸髄切断による腰髄内各ペプチド含量の変化。

という一連の実験を、ラットを対象として行った。それらの結果を詳細に検討、考察して次の結論を導き出している。

- ① NK  $\alpha$  はSPと同じく、一次知覚ニューロンの神経伝達物質と考えられ、SPと同一ニューロン内に共存する可能性が示唆された。
- ② NK  $\alpha$  含有一次知覚ニューロンは、一部交叉して対側の後角に終わっていると考えられる。この線維系においても、SPとNK  $\alpha$  は共存している可能性がある。
- ③ NK  $\beta$  は、脊髄介在ニューロン、あるいは、後角に細胞体を持ち、脊髄内を上行するニューロンに含まれていると考えられる。

本研究は、HPLCとRIAを組み合わせた測定法を用い、NK  $\alpha$ , NK  $\beta$  含有ニューロンの脊髄内局在を初めて明らかにし、その機能的役割を推定したことにより高く評価できる。

以上より学位授与に値する論文と認める。